



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
QUITECH – GRUPO DE PESQUISA EM QUITINAS E APLICAÇÕES
TECNOLÓGICAS**

MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO EUGENOL PELO MÉTODO DE SPRAY DRYING

TAIZE PEREIRA

ORIENTADOR

PROF^a. Dra. TEREZA C. R. de SOUZA

Florianópolis, fevereiro de 2007.

TAIZE PEREIRA

**MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO EUGENOL PELO MÉTODO
DE SPRAY DRYING**

Trabalho de Conclusão do Curso de Química Bacharelado, executado durante o semestre de 2006.2. Disciplina QMC 5510 - Estágio Supervisionado, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Química.

Florianópolis, SC
Fevereiro, 2007

"Você não pode provar uma
definição. O que você pode fazer é
mostrar que ela faz sentido."

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, presente em todos os momentos...

Aos meus pais, Jonas e Dilza, pelo sacrifício para me dar uma vida digna e pelo apoio em todos os momentos da minha vida e principalmente da minha graduação.

Ao meu futuro marido Josias, o meu grande incentivador, pelo companheirismo, compreensão e estímulo constante. Obrigada pelo amor e carinho em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis.

Á minha irmã Débora e meu cunhado Rogério. Obrigada pelo carinho e amizade.

A Prof^a Dr^a Tereza Cristina R. de Souza, pela orientação, amizade e incentivo sempre presente durante o desenvolvimento deste trabalho.

A todo o grupo QUITECH, e em especial ao Alexandre pela amizade e apoio.

As minhas amigas, em especial Laura Abreu da Silva e Fernanda Cavalli Schmitt que estiveram comigo durante a graduação e tornaram todos os momentos especiais.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O crescente interesse de aromas nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética entre outras, aliada a instabilidade destes compostos, frente a fatores como luz, reações oxidativas e a volatilidade, tornam necessário o desenvolvimento de técnicas para aumentar o tempo de vida útil destes compostos. Neste sentido, a técnica de microencapsulação passou a ser uma alternativa relevante. A microencapsulação pelo método de spray-drying, é um processo de pulverização e secagem de partículas líquidas e sólidas, muito utilizada principalmente pela indústria alimentícia, para dar estabilidade a flavorizantes, contra a degradação/oxidação. O objetivo deste estudo foi microencapsular o óleo eugenol, pela técnica de spray drying utilizando como agente encapsulante o biopolímero quitosana, com posterior caracterização das amostras obtidas. Os produtos resultantes da microencapsulação do óleo por atomização foram caracterizados através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho (IV) e análises térmicas (TGA e DSC). As análises de IV e DSC das amostras atomizadas sugere a presença de interação entre o óleo eugenol e a quitosana. De maneira geral, as microesferas contendo o óleo apresentaram superfícies esféricas e rugosas a partir do MEV, sendo obtido partículas com tamanho na faixa de 0,2-10µm. A inexistência de fissuras ou rompimentos, indicam que o processo de microencapsulação foi eficiente. Os dados das análises termogravimétricas (TGA e DSC) indicam uma menor estabilidade térmica das amostras atomizadas, as quais apresentam temperatura de decomposição ligeiramente menor em relação aos materiais de origem. Na determinação da quantidade de óleo retido nas amostras atomizadas verificou-se a eficiência do processo de microencapsulação. Para determinar qual foi a melhor proporção entre o óleo e o material encapsulante, foram preparadas três amostras nas diferentes proporções quitosana/óleo 4:1, 3:1 e 2:1. Alta retenção do óleo foi obtida com a proporção 3:1. Os estudos de avaliação da eficiência do biopolímero quitosana como encapsulante, foram realizados num período de 94 dias. O estudo de liberação controlada para a amostra 3:1, o tempo necessário para a liberação de 50% do óleo foi de aproximadamente 7 minutos. A partir dos resultados observou-se que as microesferas de quitosana contendo óleo eugenol mostraram-se eficiente quanto à proteção contra a volatilidade e reações deteriorativas e conseqüentemente aumentar a vida útil deste óleo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo de liberação controlada de ingredientes microencapsulados.....	14
Figura 2: Estrutura química do óleo Eugenol.....	17
Figura 3: Estrutura da quitina.....	18
Figura 4: Conversão da quitina em quitosana através da desacetilação.....	19
Figura 5: Estrutura da Quitosana.....	19
Figura 6: Mini Spray Drier Buchi 191.....	23
Figura 7: Esquema de funcionamento do spray drier: A) esquema para secagem do material, B) esquema para formação do spray a partir da amostra (Manual Buchi).....	24
Figura 8: Curva de titulação condutimétrica da quitosana.....	28
Figura 9: Espectro de infravermelho da quitosana em pastilhas de KBr.....	30
Figura 10: Espectro eletrônico UV-Vis do óleo eugenol em etanol absoluto...	30
Figura 11: Espectro de infravermelho: a) Quitosana (qts), b) qts/óleo 4:1, c) qts/óleo 3:1, d) qts/óleo 2:1 e e) óleo Eugenol.....	31
Figura 12: Microscopia eletrônica de varredura das amostras atomizadas: a) qts/ Óleo (2:1), b) qts/ Óleo (3:1) e c) qts/ Óleo (4:1).....	33
Figura 13: Análise de TGA para as amostras: a) qts/ óleo 4:1, b) qts/ óleo 3:1, c) qts/ óleo 2:1, d) Quitosana e e) óleo Eugenol.....	34
Figura 14 : Análise de DSC para as amostras: a) Quitosana b) qts/ óleo 4:1, c) qts/ óleo 2:1 e d) qts/ óleo 3:1.....	35
Figura 15: Esquema molecular da interação entre biopolímero quitosana e óleo eugenol nas amostras atomizadas	36

Figura 16 - Perfil da curva de liberação do óleo eugenol a partir da amostra atomizada preparada na proporção qts/óleo 3:1..... 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Quantidade de óleo retido na amostra Qts/óleo 4:1.....	37
Tabela 2: Quantidade de óleo retido na amostra Qts/óleo 3:1.....	38
Tabela 3: Quantidade de óleo retido na amostra Qts/óleo 2:1.....	38
Tabela 4: Retenção de óleo e eficiência de microencapsulação.....	39

LISTAS DE SIGLAS, SÍMBOLOS e ABREVIATURAS

%GD	Grau de Desacetilação da quitosana
dTG	Primeira derivada da análise termogravimétrica
DSC	Calorimetria diferencial de Varredura
IV	Infravermelho
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
M_t	Quantidade de óleo liberado no tempo t
M_∞	Quantidade de óleo total liberado
NL/h	Unidade de fluxo do spray (normlitros/horas)
qts	Quitosana
TGA	Análise Térmica Gravimétrica
T_{inlet}	Temperatura de entrada do ar de secagem
T_{outlet}	Temperatura de saída do ar de secagem
V_1	Volume de NaOH empregado para atingir o 1º ponto de equivalência na obtenção do %GD
V_2	Volume de NaOH empregado para atingir o 2º ponto de equivalência na obtenção do %GD

SUMÁRIO

Resumo

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de siglas, símbolos e abreviaturas

1 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Microencapsulação.....	12
2.2 Microencapsulação por spray drying.....	15
2.3 Óleo Eugenol.....	17
2.4 Biopolímero Quitosana.....	18
3 OBJETIVOS.....	21
3.1. Objetivo Geral.....	21
3.2. Objetivos Específicos.....	21
4 MATERIAIS e MÉTODOS.....	22
4.1 Materiais.....	22
4.2 Métodos.....	22
4.2.1 Determinação do Grau de Desacetilação da Quitosana.....	22
4.2.2 Microencapsulação do Óleo Eugenol com Quitosana.....	22
4.2.2.1 Microencapsulação do óleo eugenol pela técnica spray drying.....	22
4.2.3 Espectroscopia de Infravermelho.....	25
4.2.4 Morfologia das Microesferas.....	26
4.2.5 Análises Termogravimétricas (TGA).....	26
4.2.6 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	26

4.2.7 Quantidade de óleo retido nas amostras atomizadas / Eficiência no processo de microencapsulação.....	27
4.2.8 Estudo de liberação do óleo eugenol encapsulado.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1 Caracterização da Quitosana.....	28
5.1.1 Determinação do Grau de Desacetilação da Quitosana (%GD).....	28
5.1.2 Espectro de Infravermelho da Quitosana.....	29
5.2 Caracterização do Óleo Eugenol.....	30
5.3 Microencapsulação do óleo Eugenol com o biopolímero Quitosana.....	31
5.3.1 Espectroscopia de Infravermelho (IV) para as amostras contendo qts/óleo.....	31
5.3.2 Morfologia das Microesferas.....	32
5.3.3 Análises Termogravimétricas (TGA) das amostras de microesferas de qts/óleo.....	34
5.3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) das amostras de microesferas de qts/óleo.....	35
5.4 Análise de retenção de óleo nas amostras atomizadas.....	37
5.5 Estudos de liberação controlada do óleo eugenol.....	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	41
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

O crescente emprego de aromas nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética entre outras, aliado à instabilidade dos voláteis, torna necessário o desenvolvimento de tecnologias capazes de aumentar o tempo de vida útil destes compostos. Neste sentido, a tecnologia de microencapsulação passou a ser uma alternativa viável e importante.

A microencapsulação é um processo físico no qual um filme ou camada polimérica é aplicada para envolver sólidos, líquidos ou gases, isolando-os e protegendo-os das condições ambientais como luz, ar e umidade. Várias técnicas e agentes encapsulantes têm sido empregadas. É uma tecnologia utilizada, sobretudo, pelas indústrias farmacêuticas e químicas. Na indústria de alimentos a encapsulação tem vasta aplicação, e está exigindo novas pesquisas porque o mercado de produtos amplia-se com velocidade. A indústria de alimentos usa microcápsulas de aromas, extratos de temperos e outros. Esses aditivos são encapsulados para ter vida útil aumentada, reduzindo a volatilização e a degradação oxidativa. Vantagens adicionais incluem a facilidade de incorporação em misturas em pó e consistência melhorada.

O método mais empregado para a encapsulação de voláteis é o spray drying ou secagem por atomização. A secagem por atomização é um dos processos mais usados nas indústrias farmacêuticas e alimentícias por ser um processo econômico e facilmente adaptável, produzindo microesferas de boa qualidade. Este método envolve basicamente quatro etapas: preparação da dispersão ou emulsão, homogeneização, atomização e desidratação das gotículas atomizadas.

Assim, este trabalho tem como objetivo investigar a eficiência do biopolímero quitosana, como material de parede, no encapsulamento do óleo eugenol, por spray drying. A encapsulação de óleos voláteis pode proteger contra a volatilização durante a estocagem; proteger contra reações deteriorativas induzidas pela luz e proteger contra oxidação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microencapsulação

Microencapsulação é a técnica de imobilização de sólidos, gotículas de líquido ou material gasoso, em partículas denominadas microesferas, que podem liberar seu conteúdo sob velocidade e condições específicas (BENITA, 1996). É uma tecnologia empregada principalmente pelas indústrias farmacêuticas e químicas. Atualmente, tem encontrado vasta aplicação na indústria alimentícia (FINCH, 1990; KIRBY, 1991).

Na indústria alimentícia os ingredientes ativos são encapsulados visando principalmente: redução da volatilização dos aromas durante o armazenamento; redução da reatividade do material microencapsulado em relação aos fatores do meio externo, tais como luz, oxigênio, temperatura e umidade; minimização das interações indesejáveis com outros componentes dos alimentos, e controle da liberação gradativa do produto microencapsulado (SPARKS, 1990; DESAI & PARK, 2005).

Houve na última década um grande progresso no desenvolvimento de produtos microencapsulados. Várias técnicas e agentes encapsulantes vêm sendo sugeridas (KING, 1995; DESAI & PARK, 2005). A escolha do método de encapsulação vai depender do custo de operação, da sensibilidade do encapsulado, do tamanho desejado para a microesfera, das propriedades físicas e químicas do encapsulado e do material de parede, da aplicação do produto e do mecanismo de liberação (SHAHIDI & HAN, 1993). As microesferas são formadas pelo envolvimento do ingrediente ativo ou núcleo com o material de parede ou encapsulante.

Quanto ao tipo e ao tamanho, as microesferas podem ser variadas, sendo que a técnica de microencapsulação diferencia-se de outras técnicas de encapsulação, de acordo com o tamanho da cápsula obtida. Pode-se classificar o processo através do tamanho da cápsula resultante: macroencapsulação para cápsulas que tenham tamanho $> 5.000 \mu\text{m}$, microencapsulação para cápsulas entre $0,2 - 5.000 \mu\text{m}$ e nanoencapsulação para cápsulas $< 0,2 \mu\text{m}$. Quanto à forma, as cápsulas são idealmente esféricas, embora seu formato possa ser influenciado pela estrutura original dos ingredientes encapsulados e pelo método de encapsulação empregado (BAKAN, 1973; DZIEZAK, 1988; KING, 1995).

Um dos passos importantes para realizar o processo de microencapsulação é a escolha adequada do encapsulante e a definição do método de microencapsulação que produza microesferas com menor custo (SHAHIDI & HAN,1993).

A escolha do encapsulante dependerá das propriedades químicas e físicas do ingrediente encapsulado, do processo utilizado para formar a microesfera e das propriedades desejadas. O material pode ser selecionado a partir de uma grande variedade de polímeros naturais ou sintéticos (SPARKS,1981; DZIEZAK,1988).

O encapsulante ideal deve ter: baixa viscosidade em concentrações elevadas e ser de fácil manipulação durante o processo, ter baixa higroscopicidade (para facilitar a manipulação e evitar aglomeração, ou seja, posicionando o conteúdo das microesferas mais uniformemente distribuídos em uma mistura), transformar líquidos em sólidos para uso em sistemas secos, deve ter habilidade para dispersar ou emulsificar e estabilizar o ingrediente encapsulado e não ser reativo com o material a ser encapsulado. Deve, ainda, ter habilidade de selar e segurar o ingrediente encapsulado dentro da estrutura da microesfera, liberar completamente o solvente ou outros materiais utilizados durante o processo de encapsulação, proporcionar máxima proteção ao ingrediente encapsulado contra condições adversas (com luz, pH, oxigênio e ingredientes ativos), ter solubilidade em solventes comumente utilizados, possuir as propriedades desejadas de liberação do ingrediente encapsulado, não possuir sabor desagradável (no caso de consumo oral) e, finalmente, ser econômico (SHAHIDI & HAN, 1993; GIUNCHEDI et al., 1998)

Os encapsulantes mais comumente empregados nos estudos de microencapsulação são hidrocolóides de gomas vegetais, gelatina, amido modificado, dextrinas, lipídeos, emulsificantes e algumas fontes alternativas como quitosana, obtida a partir da quitina, extraída da casca de crustáceos (REINECCIUS, 1991; SHAHIDI & HAN,1993).

Inúmeros métodos permitem encapsular um material ativo dependendo do tipo de material a ser encapsulado, da aplicação e do mecanismo de liberação, podendo, ainda, influenciar nas suas características morfológicas.

Os ingredientes ativos podem ser introduzidos, por exemplo, nos alimentos, a partir de microcápsulas utilizando-se da tecnologia de liberação controlada evitando desta maneira perdas durante o processamento (POTHAKAMURY & BARBOSA-CANOVÁS, 1995).

A liberação controlada é uma nova tecnologia que pode ser usada para aumentar a eficiência de muitos ingredientes. Foi inicialmente utilizada pela indústria farmacêutica, com posterior expansão em outras áreas tais como: agroquímicos, fertilizantes, fármacos de uso veterinário e comidas industrializadas (POTHAKAMURY & BARBOSA-CANOVÁS, 1995).

A liberação controlada pode ser definida como um método pelo qual um ou mais agentes ou ingredientes ativos são disponibilizados em períodos de tempos específicos. Nos alimentos a liberação controlada atua mediante alguns estímulos do meio tais como, aquecimento, temperatura e controle de pH. A introdução de aditivos nos alimentos a partir deste método é feita através de sistemas denominados microcápsulas (POTHAKAMURY & BARBOSA-CANOVÁS, 1995).

Uma variedade de mecanismos de liberação do material ativo tem sido proposta a partir de microcápsulas, Figura 1. Entre eles destacam-se: fraturas, difusão, dissolução e biodegradação (SHAHIDI & HAN, 1995). De modo geral, a liberação do ingrediente encapsulado depende do tipo de geometria da partícula e do agente encapsulante utilizado para formar a microesfera. O mecanismo de liberação da substância encapsulada pode ocorrer devido ao efeito do solvente, difusão, degradação ou fratura da partícula. Pode ocorrer ainda, através da ruptura mecânica, da ação da temperatura, pela ação do pH e pela solubilidade do meio (WHORTON, 1995).

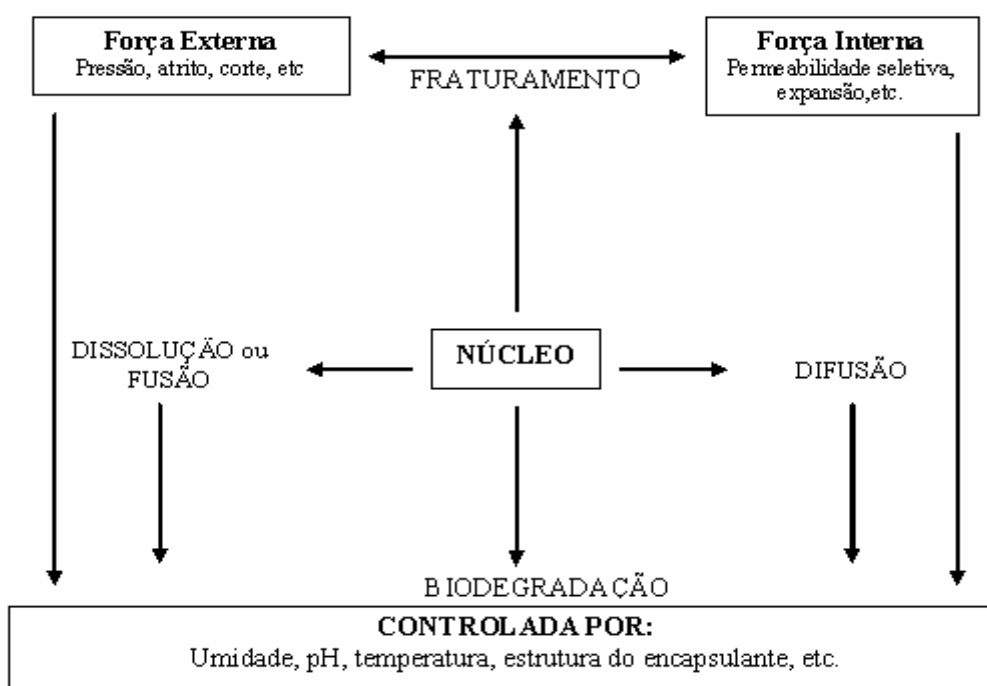


Figura 1 : Mecanismo de liberação controlada de ingredientes microencapsulados

A liberação por solvente e por difusão são os mecanismos de liberação mais relevantes. A liberação por solvente é baseada na solubilização do agente encapsulante (tipicamente com água) seguindo por subsequente liberação do ingrediente encapsulado. A liberação por difusão é estritamente governada por propriedades químicas e físicas do agente encapsulante, tais como: estrutura da matriz e tamanho dos poros (WHORTON, 1995). O tempo de liberação do material ativo depende da reação entre o polímero (substâncias com que as cápsulas são feitas) e o meio em que se encontra. Se o material ativo for um aroma para fazer refrescos, por exemplo, o polímero escolhido terá como característica principal ser solúvel em água.

Assim, o processo de encapsulação pode ser descrito em três etapas: i) formação de uma parede ou “casca” em torno do material encapsulado; ii) conservação do material dentro da “casca” e iii) liberação do material encapsulado em local específico e em tempo certo.

2.2 Microencapsulação por Spray Drying

Atualmente, o método mais utilizado de encapsulação de ingredientes ativos é o spray drying. Spray-drying é um processo de pulverização e secagem de partículas líquidas e sólidas, muito usado, por exemplo, na obtenção de leite em pó. É ainda, a técnica de encapsulamento mais econômica, tendo um vasto uso na indústria de aromas. Existe a disponibilidade de equipamentos e seu custo de produção é baixo, quando comparado com a maioria dos métodos (GOUIN, 2004). É um processo bem conhecido na área farmacêutica, para a produção de pós secos, grânulos ou aglomerados, a partir de excipientes para fármacos, soluções e suspensões (HE *et al.*, 1999). É usado na indústria alimentícia, para dar estabilidade a flavorizantes, contra degradação/oxidação e para converter líquidos em pós (GOUIN, 2004). É o processo mais empregado para produzir aromas secos.

O tamanho da partícula final obtida pelo método de spray drying, está na faixa de alguns micrômetros (HE *et al.*, 1999).

O primeiro passo sempre consiste na escolha do agente encapsulante adequado. Escolhido o agente encapsulante este é hidratado. Na emulsão resultante da solubilização do agente encapsulante é adicionado o ingrediente a ser encapsulado e, com a dispersão deste no agente encapsulante, obtém-se a mistura a ser atomizada no

spray drying (CONSTANT & STRINGHETA, 2002). A mistura é injetada no spray drying onde ocorre sua atomização direta através de um atomizador em uma câmara de secagem. A amostra atomizada entra em contato com um fluxo de ar quente (T_{Inlet}), onde a temperatura da mesma é pré-programada, ocorrendo à evaporação do solvente e a formação de pequenas gotículas de material seco, na forma esférica (RISH, 1995).

Após a secagem, as partículas seguem em direção a parte inferior da câmara de secagem e são aspiradas por vácuo, no qual as partículas são coletadas e estocadas em um recipiente específico para esta função (REINECCIUS, 1998).

Os parâmetros de controle de secagem (variáveis do processo), fundamentais para as características do produto obtido, são: temperatura de entrada e saída de ar (T_{Inlet} e T_{outlet}), fluxo de ar de secagem (quanto maior o fluxo de ar menor é a partícula obtida), distribuição de temperatura e umidade, tempo de resistência da amostra, parâmetros de injeção da amostra (velocidade de concentração da amostra) e geometria da câmara (HE *et al.*, 1999; SANTOS *et al.*, 2000; GOULA & ADAMAPOULOS, 2005).

Dentre as vantagens do emprego do spray drying, estão incluídas o fato do processo ser econômico, flexível e produzir partículas de boa qualidade. A rápida evaporação da água da matriz polimérica durante a secagem e um menor tempo de resistência da amostra na câmara de secagem, faz com que a amostra permaneça a uma temperatura abaixo de 100°C, o que permite que o processo possa ser utilizado para substâncias termossensíveis (CONSTANT & STRINGHETA, 2002). Assim, as propriedades e a qualidade do produto são mais eficientemente controladas. Produtos biológicos e farmacêuticos podem ser secos a pressão atmosférica e baixas temperaturas. A possibilidade de grandes produções, em operação contínua com equipamento simples e a produção de partículas relativamente uniformes, também são vantagens em utilizar a técnica de spray drying (SANTOS *et al.*, 2000).

Como desvantagem pode-se referir ao fato da obtenção de pós muito solúveis (muito hidrofílicos), que em contato com o ar de secagem extremamente saturado de água, pode ocasionar a dissolução parcial da amostra resultando em um aglomerado (JONES, 1988).

Neste trabalho o óleo eugenol foi encapsulado por atomização em matriz polimérica de quitosana, utilizando-se a técnica spray drying. Por esta técnica a microencapsulação de óleo envolveu as seguintes etapas: escolha de material de parede adequado ao óleo eugenol, preparo da emulsão (constituída pela solução do material de

parede e do óleo) e homogeneização da emulsão. Finalmente, a secagem da emulsão por atomização (ALEXANDER & KING, 1985; SHAHIDI & HAN, 1993).

2.3 Óleo Eugenol

Os óleos apresentam grande importância nas indústrias de perfumes, cosméticos e alimentos devido às suas propriedades aromáticas. Alguns óleos possuem atividades biológicas, podendo ser utilizados na elaboração de produtos farmacêuticos e inseticidas (BICK, 1985; WILDWOOD, 1994; SILVA *et al.*, 2001). Os óleos podem ser usados brutos ou como fontes de importantes precursores na síntese orgânica. (ZAMBONI, 1983 e CRAVEIRO & QUEIROZ, 1993).

O cravo-da-índia é uma planta usada como tempero desde a antiguidade: era uma das mercadorias entre as especiarias da china, que motivaram inúmeras viagens de navegadores europeus para o continente asiático. Na china os cravos eram usados não só como condimentos, mas também como anti-séptico bucal: qualquer um com audiência com o imperador precisava mascar cravos para prevenir o mau hálito. Viajantes árabes já vendiam cravos na Europa ainda no império romano.

O cravo-da-índia é a gema floral seca, sendo usado principalmente como condimento na culinária, devido ao seu marcante aroma e sabor, conferido por um composto aromático volátil, o eugenol.

O eugenol (4-alil-2-metoxifenol), Figura 2, um líquido oleoso amarelo, é um composto fenólico volátil e é o principal constituinte do óleo extraído do cravo-da-índia, canela, sassafrás e mirra. Possui baixa solubilidade em água, entretanto, é solúvel em solventes orgânicos. Quando exposto ao ar, mesmo à temperatura ambiente, evapora. Quando recém obtido é incolor, mas com o tempo pode sofrer oxidação, tornando-se escuro.

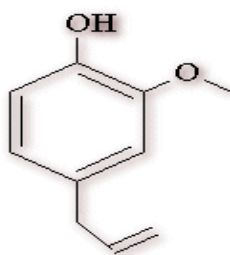


Figura 2: Estrutura química do óleo Eugenol

O eugenol é muito usado na odontologia como componente de seladores e outros produtos anti-sépticos de higiene bucal, tendo comprovado efeito bactericida. Essa aplicação comercial direta tem como consequência vários estudos sobre a obtenção do óleo de cravo-da-índia (MAZZAFERA, 2003). Além disso, o eugenol tem sido empregado para a produção de outros fenólicos, tal como a vanilina (MAZZAFERA, 2003).

Alguns trabalhos mostram que eugenol ou extratos de *S. aromaticum* apresentam atividade nematocida, inseticida, antiviral, bactericida, fungicida, anestésico e antiséptico, sendo empregado na indústria farmacêutica, alimentícia e química. Os efeitos bactericida e fungicida do eugenol talvez expliquem porque a pulverização de sementes de cravo com fungicidas não melhora a germinação (MAZZAFERA, 2003).

2.4 Biopolímero Quitosana

A quitosana é um derivado da quitina, obtido a partir de reação de desacetilação em meio alcalino (DESAI & PARK, 2005). A quitina (Figura 3), $\beta(1-4)$ -2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose, é um biopolímero de ocorrência natural encontrado nas paredes celulares dos fungos, e principalmente no exoesqueleto de invertebrados como: camarão, siri, caranguejos e lagostas (MUZZARELLI, 1997).

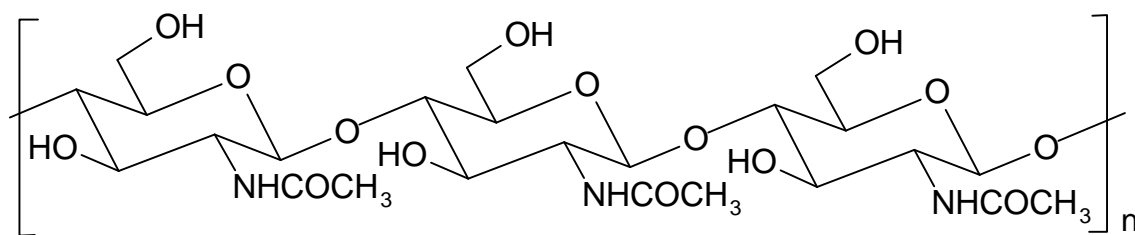


Figura 3: Estrutura da quitina

Partindo-se da quitina, através de um primeiro tratamento com hidróxido de sódio concentrado, ocorre a desacetilação das ligações N-acetil, Figura 4. Após a dissolução do material obtido em ácido acético e precipitação em hidróxido de sódio, obtém-se a quitosana (FURLAN, 1997; KITTUR & THARANATHAN, 2003). Qualquer polímero quitina que possua um grau de desacetilação maior que 40%, já pode ser considerado quitosana. (TAN *et al.*, 1998).

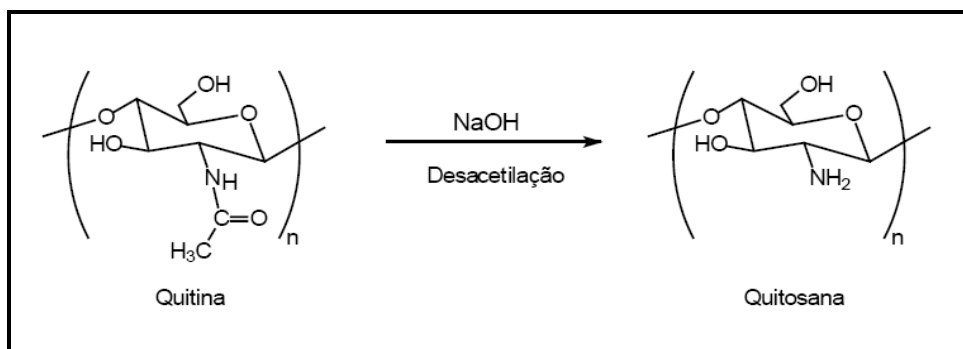


Figura 4. Conversão da quitina em quitosana através da desacetilação

A quitosana pode ser definida como um biopolímero de $\beta(1-4)$ -2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose e $\beta(1-4)$ -2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose, ilustrada na Figura 5. A maioria dos grupamentos acetamido (-NHCOCH₃) na quitina, durante a reação de hidrólise alcalina, são transformados em grupos amino (-NH₂) ao longo da cadeia polimérica (ROBERTS, 1992; GACÉN, 1996).

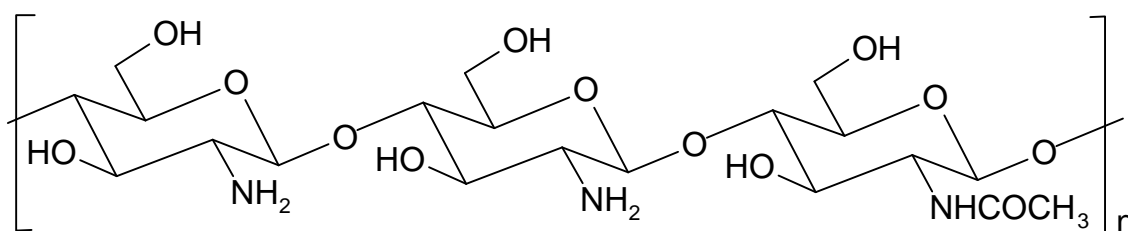


Figura 5: Estrutura da Quitosana

A quitosana apresenta características importante tais como: a biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioatividade, propriedades antibactericidas e baixa toxicidade. Por este motivo, tem atraído muito a atenção como matriz polimérica para a liberação controlada de fármacos entre outros ingredientes (JUNG et al., 2006)

Devido suas características e disponibilidade, a quitosana pode ser potencialmente usada em diversas áreas tecnológicas, tais como: biotecnologia, cosméticos, processamento de alimentos, produtos biomédicos (pele artificial, adesivos cutâneos ou curativos, lentes de contato, etc.), sistemas de liberação controlada de fármacos (na forma de comprimidos, microcápsulas e adesivos transdérmicos) e tratamento de efluentes industriais (na remoção de íons metálicos e corantes) (KAWAMURA, 1993; LONGHINOTTI *et al.*, 1998; KUMAR, 2000).

A quitosana é pouco solúvel em água e solúvel na maior parte dos ácidos orgânicos, como ácido acético, fórmico, cítrico, além de ácidos inorgânicos como ácido

clorídrico diluído resultando em soluções viscosas. A solubilidade da quitosana está relacionada com a quantidade de grupos amino protonados (NH_3^+) na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes grupos, maior a repulsão eletrostática entre as cadeias e também maior a solvatação em água. A quitosana é suscetível a mudanças estruturais, devido à grande quantidade de grupos reativos como as hidroxilas e principalmente os grupos amino (MATHUR & NARANG, 1990; SANTOS *et al*, 2003; BERGER *et al*, 2004;).

A presença dos grupos amino na cadeia polimérica, dá a quitosana um caráter de polieletrólito catiônico ($\text{pka} \approx 6,5$), fazendo com que o polímero seja solúvel em soluções com o $\text{pH} < 6,5$ (MUZZARELLI, 1973; KRAJEWSKA, 2004,).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos Gerais

Este trabalho tem por objetivo investigar a eficiência do biopolímero quitosana como material de parede, no processo de microencapsulação do óleo eugenol, pelo método spray drying.

3.2 Objetivos Específicos

- i)** caracterizar o biopolímero quitosana através da porcentagem de grupos amino (%GD);
- ii)** encapsular o óleo eugenol com quitosana em diferentes proporções quitosana/óleo pelo método spray drying.
- iii)** caracterizar as amostras encapsuladas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho (IV) e análises térmicas (TGA e DSC).
- iv)** determinar a quantidade de óleo eugenol retido nas amostras e avaliar a eficiência do processo de microencapsulação.
- v)** estudar as interações entre o óleo eugenol e a matriz polimérica quitosana.
- vi)** analisar a cinética de liberação do óleo eugenol, a partir da amostra atomizada obtida na proporção qts/óleo 3:1.

4 MATERIAIS e MÉTODOS

4.1 Materiais

O biopolímero quitosana foi fornecido pela Purifarma, Brasil. O óleo eugenol foi de procedência VETEC. Todos os outros reagentes utilizados são de grau analítico.

4.2 Métodos

4.2.1 Determinação do Grau de Desacetilação da Quitosana (%Gd)

O teor de grupos amino presentes na quitosana, foi determinado através de titulação condutimétrica, utilizando-se o método de RAIMOND (1993), que consiste na dissolução da quitosana (200 mg) na presença de 20 mL de HCl $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$, sendo em seguida diluído com 200mL de água destilada para uma boa dispersão do polímero na solução. Conduziu-se a titulação com NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, através de adições de 0,2 mL de titulante até o volume final de 100 mL. A titulação condutimétrica foi feita em triplicata utilizando um titulador automático da marca Schott Gerate, modelo T80 / 20 e um condutivímetro da marca Mettler Toledo, modelo MC 226.

4.2.2 Microencapsulação do Óleo Eugenol com Quitosana

A microencapsulação do óleo eugenol com o biopolímero quitosana em três diferentes proporções, foi realizada pelo método spray drying.

4.2.2.1 Microencapsulação do Óleo Eugenol pela Técnica de Spray Drying

O óleo eugenol foi encapsulado por spray drying em três diferentes proporções usando como material de parede a quitosana. As proporções qts/ óleo empregadas foram: 4:1, 3:1 e 2:1. As suspensões contendo o óleo e a quitosana dispersa em ácido

acético 2,5%, foram homogeneizadas vigorosamente à temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram atomizadas em um mini spray drier Buchi 191 (Figura 6), contendo um atomizador de 0,5 mm dentro de um câmara de 44 cm de altura e 10,5 cm de diâmetro. As suspensões foram mantidas sob agitação, à temperatura ambiente, durante todo o processo de atomização.

As condições do processo de encapsulação empregadas foram: temperatura da câmara de secagem em $150 \pm 5^{\circ}\text{C}$ e temperatura de saída de ar em $90 \pm 5^{\circ}\text{C}$, com pressão manométrica positiva de 5 bar e fluxo de ar 500 NL/h. Utilizou-se para todas as amostras uma taxa de atomização de 11%. Após ser encapsulado o material foi armazenado sob refrigeração e em frascos que não permitia a passagem de luz, a fim de evitar alterações nas características do produto.

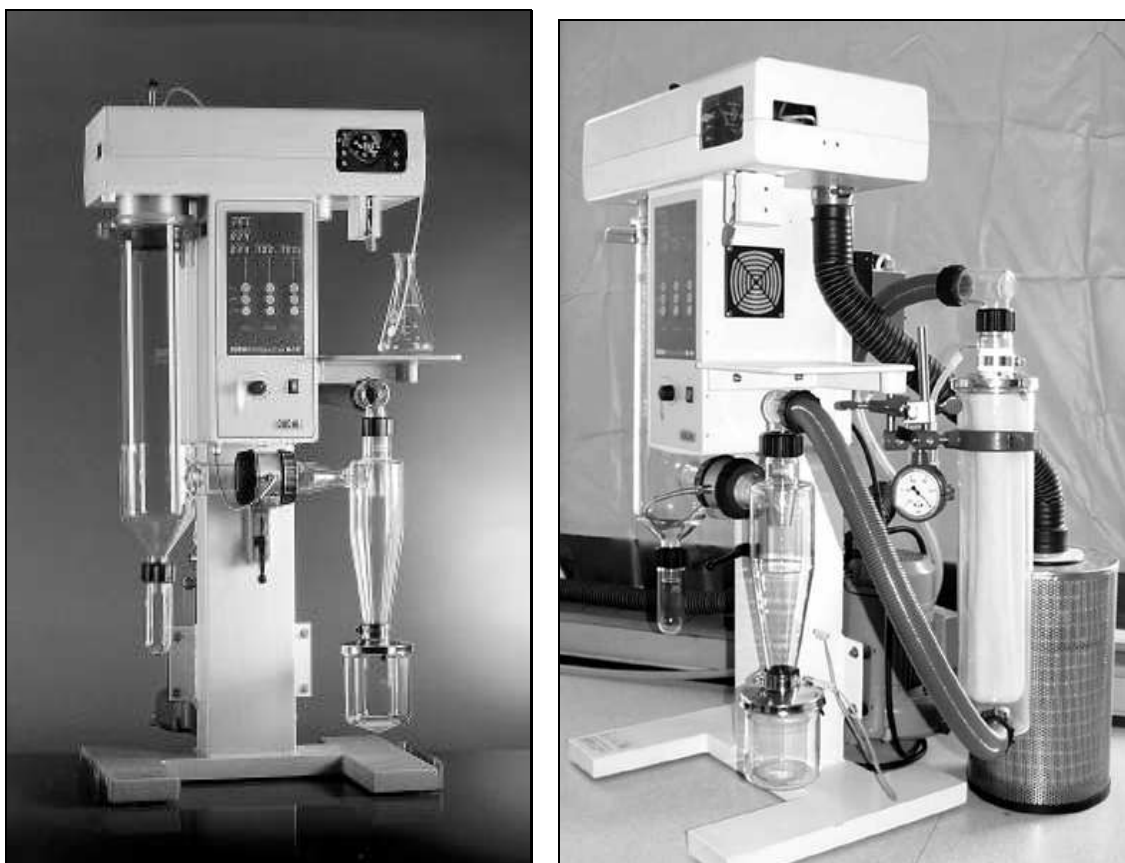
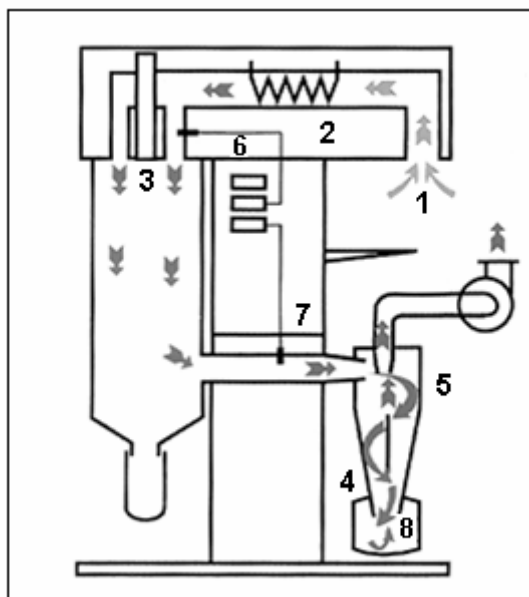


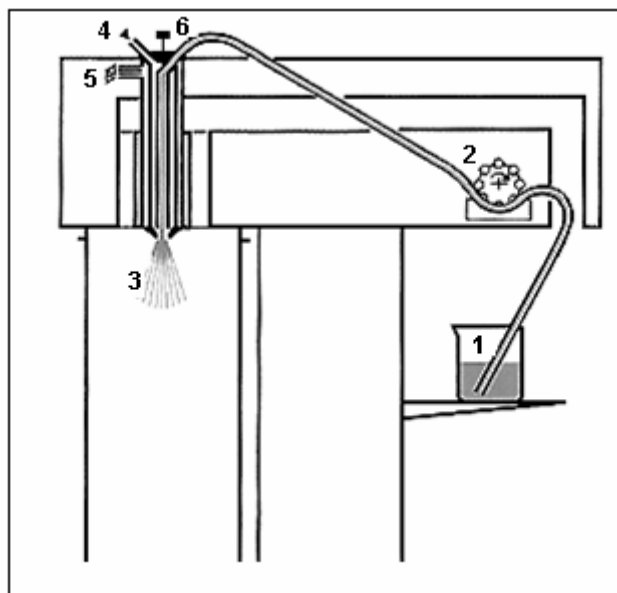
Figura 6: Mini Spray Drier Buchi 191

O esquema representado abaixo (Figura 7), mostra detalhadamente o princípio de funcionamento do equipamento spray drier na secagem do material e na formação do spray a partir da amostra.



A)

- 1) abertura de sucção de ar
- 2) aquecimento
- 3) ar de secagem com a temperatura estabilizada na câmara de secagem
- 4) ciclone
- 5) aspirador
- 6) temperatura de entrada do ar (T_{inlet})
- 7) temperatura de saída de ar (T_{outlet})
- 8) coletor de amostra



B)

- 1) solução, emulsão ou dispersão
- 2) bomba peristáltica
- 3) spray formado pela amostra
- 4) conexão para ar comprimido ou gás inerte
- 5) conexão para água (refrigeração)
- 6) agulha de limpeza (evitar obstrução do spray)

Figura 7 – Esquema de funcionamento do spray drier: A) esquema para secagem do material, B) esquema para formação do spray a partir da amostra (Manual Buchi).

Observando a Figura 7A, percebe-se que o equipamento trabalha sob vácuo, sendo o mesmo gerado pelo aspirador (5). Desta forma, o ar que entra no equipamento (1) ao passar por resistências (2) é aquecido até a temperatura (6) requerida pelo usuário. Com a entrada do spray, passa-se a controlar a temperatura de saída do ar para que a mesma não ultrapasse os 100°C (T_{outlet}) (7), dando a possibilidade de trabalhar com substâncias termossensíveis. Portanto, a amostra é coletada em um recipiente específico (8), após passar por um ciclone (4) que separa o ar de secagem e amostra, fazendo com que o ar úmido deixe o equipamento, obtendo-se o produto de secagem.

A Figura 7B, mostra o funcionamento do atomizador (formador de spray) no equipamento. A amostra (1) é sugada e concentrada na câmara de secagem através de uma bomba peristáltica (2) própria do equipamento, chegando ao atomizador (3) onde o spray é formado. Esta bomba permite que a concentração de amostra possa ser rápida para amostras diluídas e lentas para amostras viscosas. Para auxiliar na formação do spray, conta-se com a entrada de ar comprimido (4). Como o equipamento trabalha com temperaturas elevadas, o atomizador possui uma câmara para refrigeração (5) com circulação contínua de água, permitindo que a amostra seja exposta a temperatura de secagem somente na câmara, evitando assim que ocorram entupimentos. E finalmente, para garantir o bom funcionamento do spray e impedir o entupimento do spray, o equipamento conta com uma agulha de limpeza (6) que é acionada por meio de pressão.

4.2.3 Espectroscopia de Infravermelho (IV)

A espectroscopia no infravermelho é uma técnica usada freqüentemente para identificação de compostos. Neste caso, a região do espectro eletromagnético, correspondente ao infravermelho, representa a localização da maior parte da energia das vibrações moleculares e tem o comprimento de onda entre 2,5 e 15 μm (4000 a 667 cm^{-1}). Os grupos funcionais e os átomos de uma amostra estudada apresentam, por exemplo, as freqüências características permitindo, após um estudo minucioso, determinar as estruturas esperadas ou não (SILVERSTEIN, 2000).

As amostras de óleo eugenol, microesferas de quitosana pura e microesferas contendo óleo em várias concentrações, resultante da microencapsulação pelo método spray drying, foram caracterizadas por espectroscopia no infravermelho. Os espectros de infravermelho foram obtidos na região de 4000 a 400 cm^{-1} , em nujol para amostra do

óleo eugenol e pastilhas de KBr para as demais amostras, empregando um espectrofotômetro com transformada de Fourier, System 2000 FT-IR da Perkin Elmer, disponível na Central de Análises do Departamento de Química, da UFSC.

4.2.4 Morfologia das Microesferas

A morfologia interna e externa, porosidade, presença de fissuras e tamanho médio das microesferas de quitosana pura e das microesferas contendo óleo eugenol em diferentes proporções, foram avaliadas empregando-se a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As amostras foram analisadas empregando-se um Microscópio Eletrônica de Varredura, marca Phillips, modelo XL 30, do Laboratório de Materiais (LabMat) do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina.

4.2.5 Análises Termogravimétricas (TGA)

A análise termogravimétrica é uma técnica que se baseia na medida de perda de massa de uma determinada amostra em função da temperatura ou do tempo.

As análises termogravimétricas foram realizadas para as amostras de óleo eugenol, microesferas de quitosana pura e microesferas contendo o óleo, com objetivo de avaliar a estabilidade térmica dos materiais em análise. As amostras foram analisadas utilizando-se um Analisador Termogravimétrico Shimadzu TGA 50. As análises foram efetuadas sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50,0 mL min^{-1} e velocidade de aquecimento 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

4.2.6 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As análises de DSC foram realizadas para as amostras atomizadas, para o óleo eugenol e microesferas de quitosana pura, com objetivo de avaliar possíveis interações polímero/ óleo eugenol. As amostras foram analisadas utilizando-se um Analisador

Termogravimétrico Shimadzu DSC 50, sob atmosfera de nitrogênio, com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

4.2.7 Quantidade de Óleo Retido nas amostras atomizadas / Eficiência ao processo de Microencapsulação

Para a quantificação do óleo retido nas amostras atomizadas foram pesadas aproximadamente 10,0 mg das amostras nas diversas proporções e dissolvidas em 10,0 ml de ácido acético/etanol (1:1). Agitaram-se por 1 hora as amostras, para sua completa dissolução. Em seguida, as amostras foram analisadas no comprimento de onda máxima do óleo eugenol, $\lambda_{\text{máx}}$ 283 nm, usando um espectrofotômetro UV-Vis da marca Shimadzu UV-1203. A porcentagem de óleo retido foi calculada usando a curva de calibração do óleo eugenol em etanol, na qual relaciona a absorbância com a concentração conhecida de óleo eugenol. O experimento foi realizado por um período de 94 dias.

4.2.8 Estudo de Liberação do Óleo Eugenol Encapsulado

O estudo de liberação do óleo eugenol encapsulado foi realizado em um espectrofotômetro Shimadzu UV-1203. Este estudo foi realizado a amostra atomizada preparada na proporção qts/ óleo 3:1. Amostra (10,0 mg) atomizada de quitosana/óleo eugenol, foi suspensa em 10,0 mL de ácido acético/etanol (1:1) e mantida sob agitação constante. Após intervalos de tempo pré-determinados, 3mL da amostra, foi analisada no comprimento de onda máxima do óleo eugenol, $\lambda_{\text{máx}}$ 283 nm. Após as leituras a alíquota de 3mL era devolvida ao béquer. A quantidade de óleo eugenol liberado com o tempo foi determinada usando uma curva de calibração do óleo eugenol que relaciona a absorbância com a concentração conhecida de óleo eugenol. O experimento foi realizado em duplicata.

5 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Os estudos envolvendo a utilização do biopolímero quitosana como material de parede no processo de microencapsulação do óleo eugenol, com o intuito de prolongar o tempo de vida útil de voláteis, iniciou-se pela caracterização da quitosana através de espectroscopia de infravermelho, análises termogravimétricas: TGA e DSC e grau de desacetilação. E em seguida determinou-se à percentagem de óleo retido nas amostras encapsuladas e fez-se um estudo de liberação controlada a partir da amostra com maior quantidade de óleo retido.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA QUITOSANA

5.1.1 Determinação do Grau de Desacetilação da Quitosana (% GD)

Vários métodos são descritos para a determinação do grau de desacetilação da quitosana, sendo a titulação condutimétrica o método escolhido em função da simplicidade do método e de sua precisão. A curva dos valores de condutância, k , *versus* volume de titulante apresenta dois pontos de inflexão conforme mostra a Figura 8.

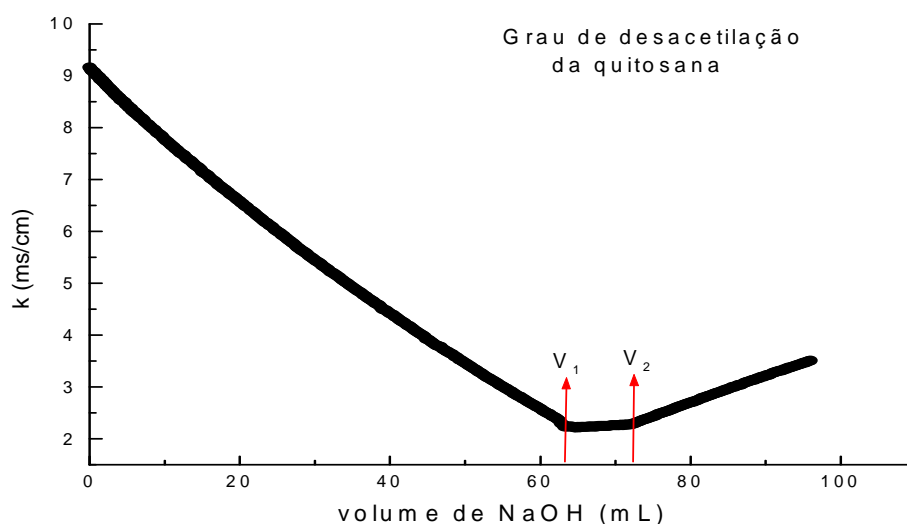


Figura 8 - Curva de titulação condutimétrica da quitosana.

Uma das mais importantes propriedades é o grau de desacetilação, o qual determina se o polímero é quitina ou quitosana, arbitrariamente, o grau de desacetilação ≥ 40 define o material polimérico como quitosana (TAN *et al.*, 1998).

A curva de titulação apresenta dois pontos de inflexão, sendo o primeiro correspondente a neutralização de HCl em excesso na solução e o segundo referente à neutralização do polímero protonado. A diferença entre os dois pontos de equivalência corresponde ao volume de base requerido para neutralizar os grupos amino. A porcentagem de grupos amino foi calculada pela equação:

$$\% \text{ GD} = \frac{M(V_2 - V_1)161}{W} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde M é a concentração da solução de NaOH, V_1 (62,70mL) e V_2 (72,97mL) são os volumes de NaOH em mL, empregados para neutralizar o excesso de ácido clorídrico e a quitosana protonada, 161 é a massa de uma unidade monomérica do polímero e W é a massa de amostra em mg empregada na titulação. O grau de desacetilação calculada por este método foi de 82,75%, sendo que este valor representa a média de três determinações.

5.1.2 Espectro de Infravermelho da Quitosana

Com a análise do espectro de infravermelho da quitosana (Figura 9), consegue-se observar a presença das bandas referentes aos grupos funcionais existentes na cadeia polimérica, tais como, OH, NH_2 e C=O , sendo ainda uma contribuição da quitina.

Observam-se para a quitosana as principais bandas: 3448 cm^{-1} banda de estiramento da ligação -OH ; 2922 e 2865 cm^{-1} bandas de estiramento C-H ; 1653 e 1598 cm^{-1} referem-se ao estiramento C=O de amida secundária e as vibrações de deformação de N-H de amina primária, respectivamente. A banda em 1381 cm^{-1} é atribuída ao estiramento C-H do grupo CH_3 referente ao grupo acetoamido ainda presente na cadeia polimérica em pequena proporção, pois a quitosana não está completamente desacetilada. A banda em 1081 cm^{-1} é referente ao estiramento vibracional C-O de álcool primário.

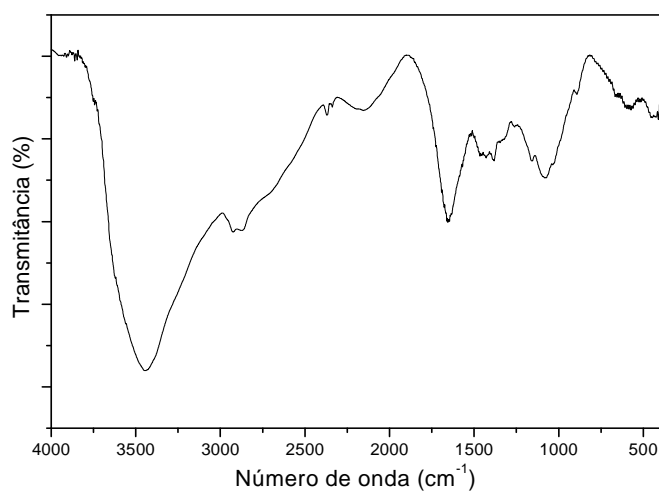


Figura 9 – Espectro de infravermelho da quitosana em pastilhas de KBr.

5.2 Caracterização do Óleo Eugenol

A Figura 10 ilustra o espectro eletrônico UV-Visível do óleo eugenol, em etanol absoluto, e seu respectivo comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$). A absorbância foi medida na faixa do espectro de 200 a 400 nm, e o valor de $\lambda_{\text{máx}}$ foi determinado em 283 nm. A partir deste comprimento de onda foi construída uma curva de calibração para o eugenol, em etanol.

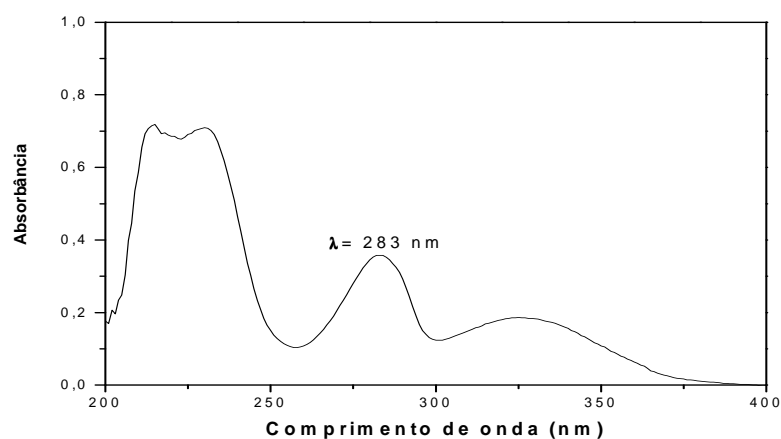


Figura 10: Espectro eletrônico UV-Vis do óleo eugenol em etanol absoluto.

5.3 Microencapsulação do Óleo Eugenol com o Biopolímero Quitosana

O óleo eugenol foi encapsulado em matriz polimérica de quitosana através do método físico: *Spray drying ou secagem por atomização*. Esta técnica envolve tanto a remoção do solvente quanto a formação de partículas, o que a torna um processo especial de secagem. As amostras atomizadas contendo o óleo eugenol foram caracterizadas através da espectroscopia de infravermelho (IV), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC).

5.3.1 Espectroscopia de Infravermelho (IV) para as amostras contendo quitosana/óleo

A Figura 11, mostra os espectros de infravermelho do óleo eugenol e das microesferas de quitosana contendo óleo eugenol, em diferentes proporções quitosana/óleo. Para efeito de comparação é apresentado também o espectro de infravermelho da quitosana pura, Figura 11a.

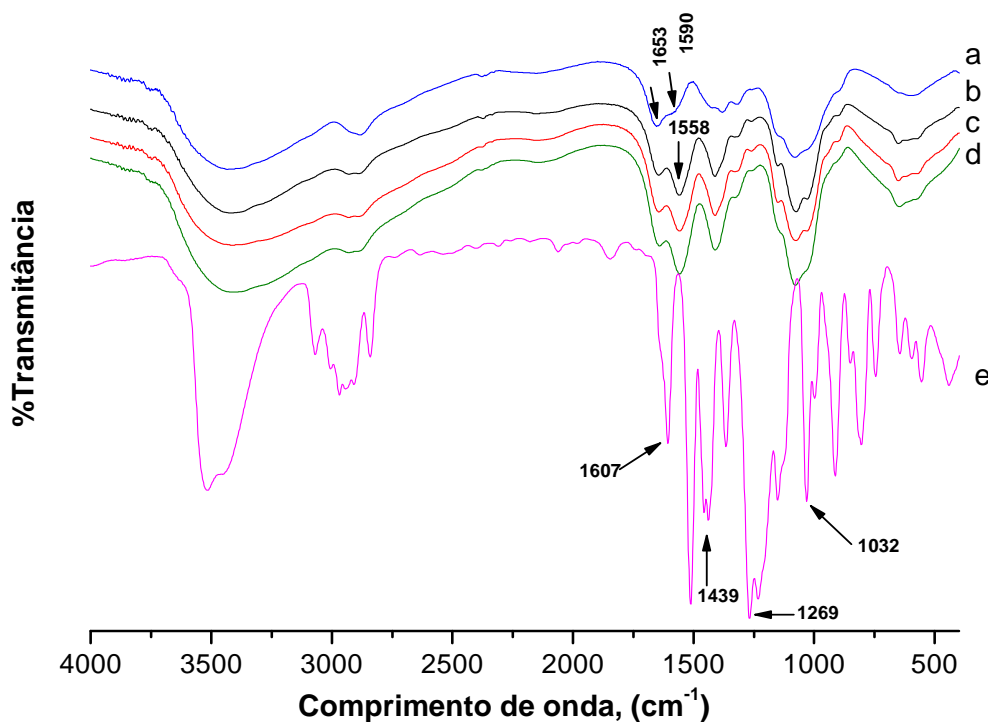


Figura 11 – Espectro de infravermelho: a) Quitosana (qts), b) qts/óleo 4:1, c) qts/óleo 3:1, d) qts/óleo 2:1 e e) óleo Eugenol

O espectro de infravermelho do óleo eugenol puro, Figura 11e, mostra bandas em 3515 cm^{-1} atribuída ao estiramento da ligação -OH e em 2968 cm^{-1} referente à banda de estiramento C-H do grupo CH_3 . As bandas em 1607 e 1439 cm^{-1} referem-se ao estiramento C=C e $\text{CH}_2=$ do grupo vinil, respectivamente. As bandas de absorção em 1269 e 1032 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento da ligação C-O de éster e álcool primário, respectivamente. A banda em 999 cm^{-1} refere-se à deformação angular do grupo RCH=CH_2 .

Os espectros de infravermelho das amostras quitosana/óleo nas proporções, 4:1, 3:1 e 2:1, são apresentados nas Figuras 11b, 11c e 11d, respectivamente. A análise de IV das amostras atomizadas sugere a presença de uma interação entre o eugenol e a quitosana, sendo observado a formação de uma banda em 1558 cm^{-1} característica de amida II, e o desaparecimento da banda em 1598 cm^{-1} referente ao grupo amino (SILVERSTEIN *et al.*, 2000), quando comparado com o espectro de infravermelho da quitosana pura, Figura 9a. Ao se comparar o espectro de IV do óleo eugenol com o das amostras atomizadas, observa-se o desaparecimento das bandas em 1607 e 1439 cm^{-1} referentes ao estiramento C=C e $\text{CH}_2=$ do grupo vinil, respectivamente, Figura 11b-e.

5.3.2 Morfologia das microesferas

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) fornece informações sobre as características morfológicas das microesferas, tais como a presença de fissuras e poros, permitindo uma análise rápida e direta da eficiência do processo de encapsulação. A presença de fissuras e rachaduras na superfície das microesferas pode comprometer a proteção oferecida ao encapsulado. Pode-se também, verificar a partir do MEV, a homogeneidade do tamanho das microesferas formadas (ROSENBERG *et al.*, 1995).

A Figura 12 ilustra as micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das microesferas contendo quitosana/óleo eugenol nas proporções: 2:1; 3:1 e 4:1.

A partir da Figura 12, observa-se que em geral as amostras atomizadas apresentaram-se esféricas e com rugosidades. Também se observa a inexistência de fissuras ou rompimentos, indicando que o processo de microencapsulação com quitosana foi eficiente.

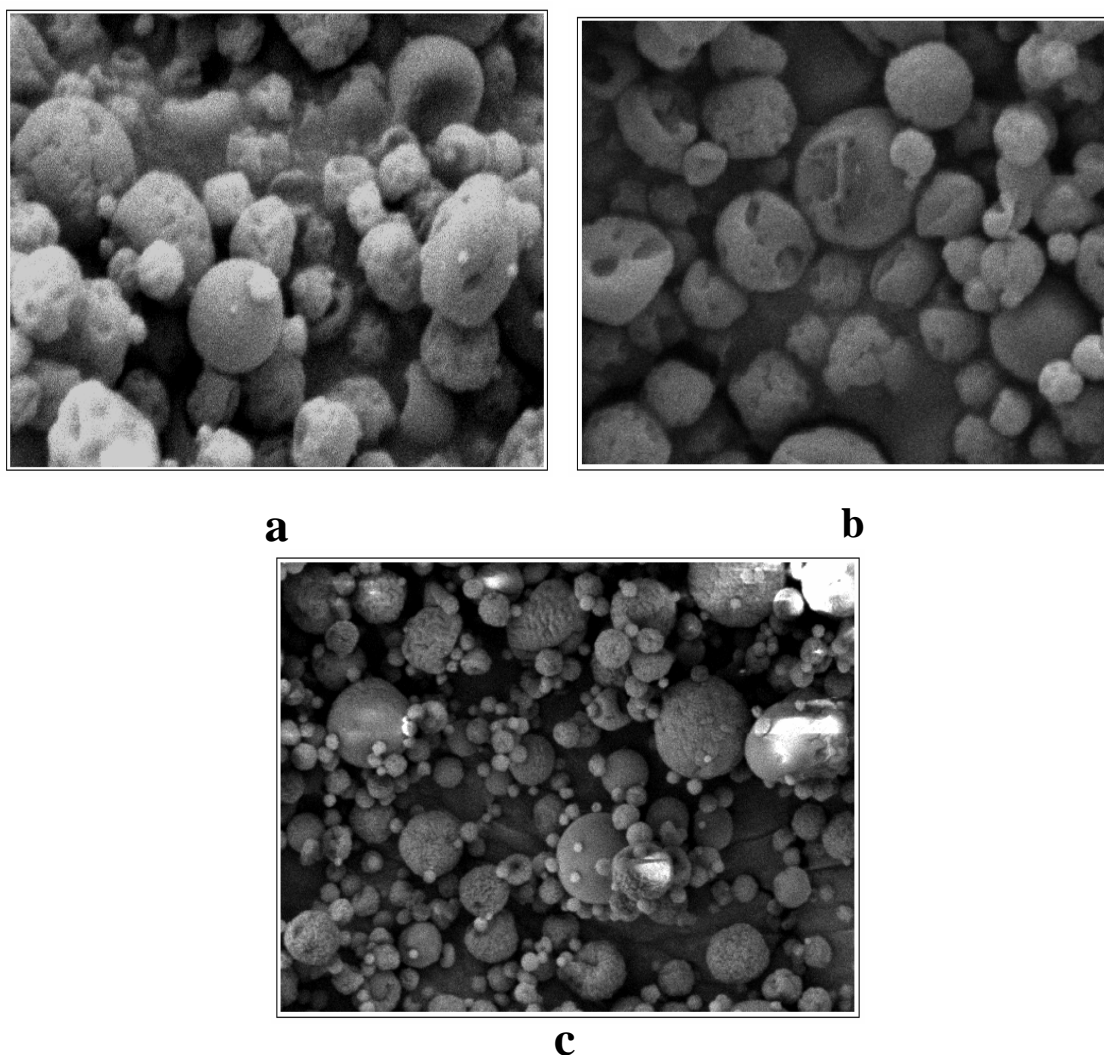


Figura 12 – Microscopia eletrônica de varredura das amostras atomizadas: a) qts/ Óleo (2:1), b) qts/ Óleo (3:1) e c) qts/ Óleo (4:1).

As amostras apresentaram superfícies externas um pouco diferenciadas dependendo da quantidade de óleo presente. Analisando as imagens de microscopia eletrônica de varredura, observa-se que a amostra contendo menor proporção de óleo, Figura 12c, apresentou-se mais esférica e rugosa. Já as amostras preparadas nas proporções qts/óleo 2:1 e 3:1 (Figuras 12a e 12b, respectivamente), além de apresentarem superfícies esféricas e rugosas, apresentaram-se com estruturas dentadas. O aparecimento de dentes na superfície em geral é atribuído à evaporação das gotículas de líquido durante o processo de secagem no atomizador. (ROSENBERG *et al.*, 1995)

Pode-se observar, nas micrografias apresentadas na Figura 13, que pequenas partículas posicionam-se ao redor das maiores formando um aglomerado. O comportamento com relação ao diâmetro das partículas foi semelhante, para os três tipos de amostras, variando em média de 0,2 -10 μm .

5.3.3 Análise Termogravimétrica (TGA) das Amostras de microesferas de Quitosana/ óleo Eugenol

A termogravimetria é uma técnica que se baseia na medida de perda de massa de uma determinada amostra em função da temperatura ou do tempo. Os termogramas, bem como as curvas originadas pela primeira derivada (dTG), fornecem informações sobre a estabilidade térmica do material analisado (SKOOG *et al*, 1991).

As análises termogravimétricas foram realizadas para as amostras de óleo eugenol, microesferas de quitosana pura e microesferas de quitosana contendo óleo em diferentes proporções, Figura 13.

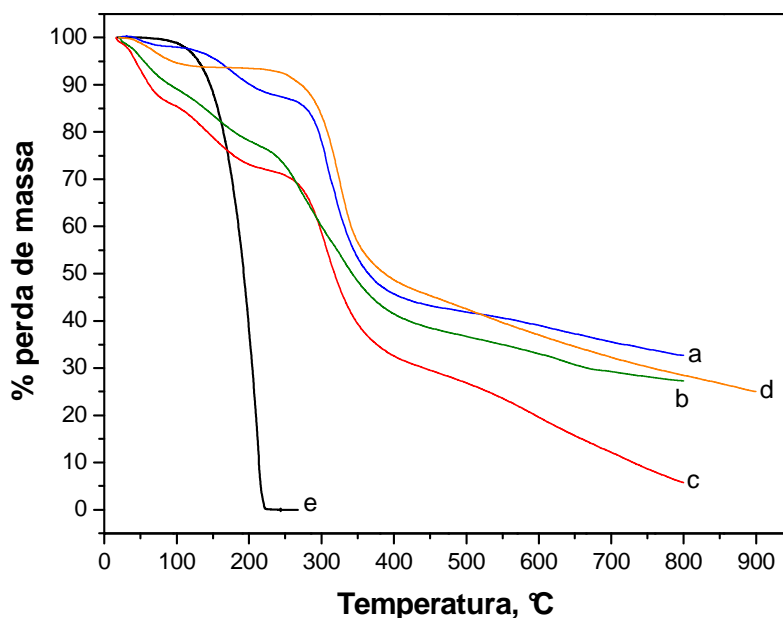


Figura 13 – Análise de TGA para as amostras: a) qts/ óleo 4:1, b) qts/ óleo 3:1, c) qts/ óleo 2:1, d) quitosana e e) óleo Eugenol.

Observa-se que todas as amostras apresentam perda de massa em torno de 50°C referente à perda de água presente nas amostras, sendo referente a um processo de desumificação das microsferas.

Outras perdas de massa são verificadas em: 178,69 °C (52%) e 310,04°C (40%) para a amostra na proporção qts/ óleo, 4:1; 146,94°C (58%) e 326,61°C (52%) para a amostra na proporção qts/ óleo 3:1; 138,94 °C (65%) e 306,11°C (38%) para a amostra na proporção qts/ óleo 2:1, Figura 13 a, b, c.

Estas perdas referem-se à decomposição térmica do óleo eugenol e da quitosana presentes nas amostras. Estes picos de decomposição foram comparados com os picos de decomposição do óleo eugenol 212,79°C e da quitosana 325°C, Figuras 13 e-d. Estes dados sugerem uma menor estabilidade térmica das amostras atomizadas em relação aos materiais de origem.

5.3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) das Amostras de microesferas de Quitosana/ óleo Eugenol

A técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi empregada para examinar possíveis interações entre a matriz polimérica e óleo eugenol.

Observa-se para todas as amostras, um pico endotérmico por volta de 90 – 105°C (Figura 14), correspondente ao processo de remoção de água (umidade) presente nas amostras.

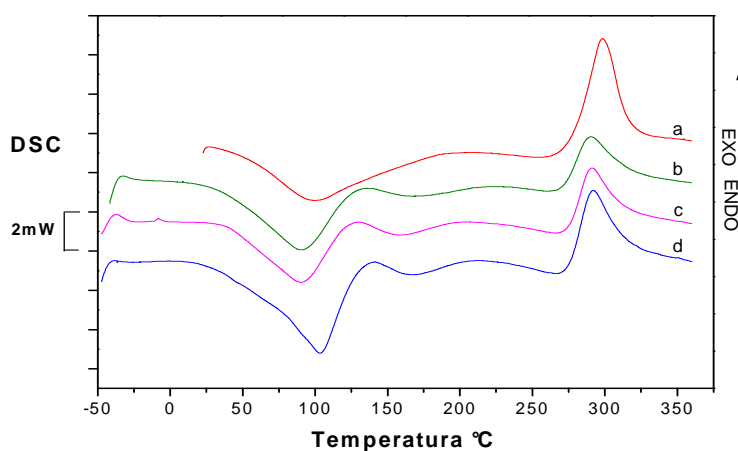


Figura 14: Análise de DSC para as amostras: a) quitosana b) qts/ óleo 4:1, c) qts/ óleo 2:1 e d) qts/ óleo 3:1.

Na Figura 14a, verifica-se também um pico exotérmico em 299 °C correspondente ao processo de degradação da quitosana. Este pico aparece deslocado para temperaturas mais baixas no DSC das amostras atomizadas, sendo observado em 290,34 °C; 292,01°C e 291,16 °C para as amostras qts/óleo: 4:1, 3:1 e 2:1, respectivamente. Figura 14b-d.

No DSC das amostras atomizadas observa-se ainda a presença de um pico endotérmico em 167,03 °C para a amostra qts/ óleo 4:1; 167,14 °C para a amostra qts/ óleo 3:1 e 159,06 °C para a amostra qts/ óleo 2:1, Figura 14 b-d. Este pico é atribuído à temperatura de decomposição do óleo eugenol. A presença deste pico endotérmico no DSC das amostras atomizadas, confirma a existência de um novo material presente na matriz polimérica, indicando a eficiência do processo de encapsulação. Por outro lado, o deslocamento observado na temperatura de degradação da quitosana sugere uma interação entre a matriz polimérica e o óleo eugenol. Estes dados corroboram com os resultados observados no TGA das amostras atomizadas.

Assim com os dados das análises de infravermelho, TGA e DSC, a sugestiva interação existente entre eugenol e o biopolímero quitosana nas amostras atomizadas, está representada esquematicamente pela Figura 15.

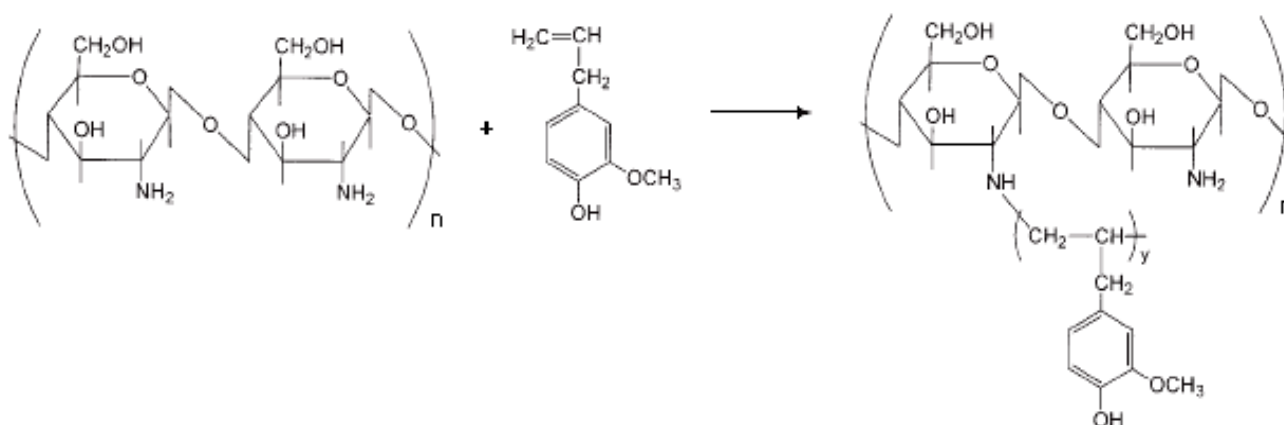


Figura 12: Esquema molecular da interação entre biopolímero quitosana e óleo eugenol nas amostras atomizadas

5.4 Análise da retenção de óleo nas amostras atomizadas

A determinação da quantidade de óleo retido nas amostras atomizadas é importante, pois permite verificar a eficiência do processo de microencapsulação. De acordo com ROSENBERG *et al.* (1995) a retenção do encapsulado é governada pelo tipo de agente encapsulante, composição da solução de alimentação, concentração de sólidos, temperatura de entrada e saída do ar, velocidade e umidade do ar, velocidade do fluxo do material, características de atomização e da natureza material ativo.

A fim de determinar a melhor proporção entre o material encapsulante e o encapsulado, para a retenção do óleo eugenol, as amostras foram preparadas em três diferentes proporções quitosana/óleo 4:1, 3:1 e 2:1.

A quantidade de óleo retido nas amostras atomizadas é apresentada nas Tabelas 1, 2 e 3. A fim de avaliar a eficiência da proteção do conjunto encapsulante/encapsulado e conseqüentemente sua vida útil, este estudo foi realizado por um período de 94 dias. A variação na retenção do encapsulado foi atribuída as diferentes proporções de quitosana e óleo empregado no preparo das amostras.

Tabela 1: Quantidade de óleo retido na amostra qts/óleo 4:1

Dias	Massa da amostra (g)	Absorbância	Concentração de óleo (g/mL)	% de óleo retido
0	0,0101	0,680	0,0048	43,50
7	0,0110	0,774	0,0056	46,35
13	0,0103	0,749	0,0054	47,65
20	0,0110	0,825	0,0060	49,80
27	0,0107	0,830	0,0061	51,54
31	0,0104	0,810	0,0059	51,63
39	0,0102	0,832	0,0061	52,25
60	0,0104	0,820	0,0060	52,34
81	0,0107	0,860	0,0063	53,65
94	0,0106	0,869	0,0064	54,76

Tabela 2: Quantidade de óleo retido na amostra qts/óleo 3:1

Dias	Massa da amostra (g)	Absorbância	Concentração de óleo (g/mL)	% de óleo retido
0	0,0108	1,299	0,0099	76,50
7	0,0100	1,351	0,0104	86,23
13	0,0101	1,401	0,0108	88,65
20	0,0101	1,243	0,0095	78,00
27	0,0102	1,237	0,0094	76,73
31	0,0103	1,395	0,0107	86,13
39	0,0100	1,243	0,0095	78,76
60	0,0109	1,485	0,0115	87,50
81	0,0106	1,381	0,0106	82,90
94	0,0100	1,194	0,0091	75,36

Tabela 3: Quantidade de óleo retido na amostra qts/óleo 2:1

Dias	Massa da amostra (g)	Absorbância	Concentração de óleo (g/mL)	% de óleo retido
0	0,0101	1,140	0,0086	59,90
7	0,0105	1,206	0,0092	61,34
13	0,0106	1,273	0,0097	64,33
20	0,0113	1,243	0,0095	58,85
27	0,0100	1,102	0,0083	58,31
31	0,0104	1,210	0,0092	62,06
39	0,0105	1,220	0,0093	62,00
60	0,0101	1,227	0,0094	64,90
81	0,0109	1,296	0,0099	63,80
94	0,0108	1,243	0,0095	61,60

A partir destes resultados observou-se que microesferas de quitosana contendo óleo eugenol foram preparadas com sucesso por spray drying. A retenção do óleo foi superior para a amostra preparada na proporção 3:1 apresentando um valor médio de 81,70% de retenção total, Tabela 2. Observa-se que a quantidade de óleo retido permaneceu estável em todas as amostras atomizadas ao longo de 94 dias, indicando o efeito protetivo do material microencapsulado.

A Tabela 4 mostra a quantidade de óleo retido por kg de amostra atomizada bem como, a percentagem média de óleo retido para cada amostra com diferentes proporções de quitosana/óleo.

Tabela 4: Retenção de óleo e eficiência de microencapsulação

Amostra qts/óleo	Massa de óleo retido (g)/kg de pó	% Eficiência de retenção
4:1	55,60 kg	50,35
3:1	98,55 kg	81,70
2:1	88,15 kg	61,70

Estes resultados mostram que o biopolímero quitosana pode ser uma alternativa viável a ser empregada como agente encapsulante de óleos, apresentando neste caso excelente retenção de óleo eugenol na amostra 3:1 (aproximadamente 80%).

É necessário ressaltar que as condições de processamento do atomizador empregadas durante o preparo das amostras tais como: temperatura de entrada e saída do ar, velocidade do fluxo de alimentação, diâmetro do injetor etc., foram as mesmas durante toda a realização deste trabalho, não sendo o objetivo neste momento a otimização desses parâmetros.

5.5 Estudos de liberação controlada do óleo eugenol

O estudo do comportamento de liberação controlada do óleo eugenol encapsulado foi feito para a proporção 3:1, tendo em vista o bom rendimento obtido no processo de atomização desta amostra.

A quantidade de óleo eugenol liberado com o tempo (M_t) foi monitorada em um espectrofotômetro UV-Vis, no comprimento de onda máxima do óleo, $\lambda_{\text{máx}}$ 283 nm. A quantidade total de óleo liberado (M_∞) foi obtida após manter a amostra, qts/óleo, em solução por algumas horas.

O aspecto geral da curva de liberação do óleo eugenol para a amostra 3:1 é ilustrado na Figura 16. O gráfico mostra a fração de óleo liberado ($M_t/M_\infty \times 100$) em função do tempo, onde M_t é a quantidade de óleo liberado no tempo, t , e M_∞ é a quantidade de óleo liberado no tempo infinito. Observa-se que o tempo necessário para a liberação de 50% do óleo foi de aproximadamente 7 minutos.

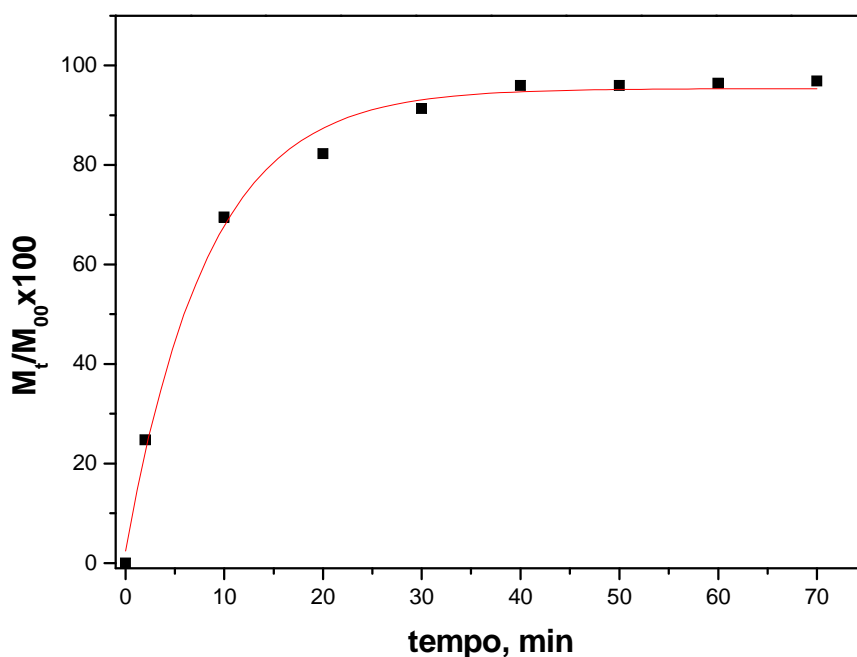


Figura 16 - Perfil da curva de liberação do óleo eugenol a partir da amostra atomizada preparada na proporção qts/óleo 3:1.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- As microesferas de quitosana apresentaram uma porcentagem de grupos amino livre (%GD) de 82,75%;
- Microesferas de quitosana contendo óleo eugenol foram preparadas com sucesso pelo método spray drying.
- A microscopia eletrônica de varredura das amostras revelou que as amostras atomizadas apresentaram-se esféricas e com rugosidades. Também, se observou a inexistência de fissuras ou rompimentos, sendo obtido partículas com tamanho na faixa de 0,2-10µm. As análises de MEV indicaram que o processo de microencapsulação do óleo eugenol com quitosana foi eficiente.
- As análises de IV e DSC das amostras atomizadas sugerem a presença de uma interação entre o eugenol e a quitosana.
- Os dados das análises termogravimétricas (TGA e DSC) indicam uma menor estabilidade térmica das amostras atomizadas, as quais apresentam temperatura de decomposição ligeiramente menor em relação aos materiais de origem.
- As análises de retenção de óleo nas amostras atomizadas foi maior para a amostra na proporção 3:1, a qual apresentou valor médio de 81,70 de retenção total.
- A quantidade de óleo retido permaneceu estável em todas as amostras atomizadas ao longo dos 94 dias.
- O estudo de liberação controlada para a amostra 3:1, o tempo necessário para a liberação de 50% do óleo foi de aproximadamente 7 minutos.
- De acordo com os resultados obtidos, o biopolímero quitosana, mostrou-se eficiente no processo de microencapsulação do óleo eugenol, pelo método de spray drying, podendo ser considerada uma alternativa viável a ser empregada como agente encapsulante de voláteis.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, K. & KING C.J. **Factor governing surface morphology of spray-dried amorphous substances**. Drying Technology, p.321-348, 1985.

BAKAN, J. A., **Microencapsulation of foods and related products**, Food Technology, v.27,p.34-44, 1973.

BENITA, S., **Microencapsulation: Methods and industrial application** , New York: Marcel Dekker, Inc.p.1-20,1996.

BERGER, J., et al. **Structure and Interactions in Covalently and Ionically Crosslinked Chitosan Hydrogels for Biomedical Applications**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 57, n.1, p. 19-34, 2004.

BICK, L. F. **Os óleos essenciais e sua aplicação na indústria alimentícia**. In: *I Simpósio de óleos essenciais*. São Paulo, 1985, p.111-117.

CONSTANT, P. B. L., STRINGHETA, P. C., **Microencapsulação de Ingredientes Alimentícios**, Bol. SBCTA, 36 (1), 12-18, 2002.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C., **Óleos Essenciais e Química Fina**. Química Nova, v. 16, n. 3, p. 224-228, 1993.

DESAI, K.G.H., PARK, H.J., **Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linkend chitosan microespheres by spray drying**, Journal of microencapsulation, p.179-180, 2005

DZIEZAK, J. D., **Microencapsulation and Encapsulated Ingredients**, Food technology, 42, 136-151, 1988.

FINCH, C. A., **Mivroencapsulation**. In: Ullmann's encyclopedia of indrustrial chemical, Weinheim: VCH verlagsgesellschaft, v. A.16, p: 575-588, 1990.

FURLAN, L., **Adsorção de corantes naturais reativos e fotossensíveis por aminopolissacarídeos naturais**, 1997, Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química – UFSC – Florianópolis.

GACÉN, J., GACÉN, I., **Quitina y quitosano**. Nuevos materiales textiles. Boletín Intexter, p.67-71,1996.

GIUNCHEDI, P., GENTA, I., CONTI, B., MUZZARELI, R. A. A., CONTE, U., **Preparation and characterization of ampicilin loaded methylpyrrolidinone chitosan and chitosan microspheres**, Biomaterials, 19, 157-161,1998.

GOUIN, S., **Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends**, Trends in Food Science and Technology, v.15, 330-347, 2004.

GOULA,M., ADAMAPOULOS,K.G.,**Spray drying of tomato pulp in dehumidified air. The effect on product recovery**, J. Food Engineering, V.66, p.25-34,2005.

HE, P., DAVIS, S. S., ILLUM, L., **Chitosan micropshesres prepared by spray drying**, International Journal of Pharmaceutics,187,53-65,1999.

JONES, D. M., **Controlling Particle Size and Release Properties**. In: RISH, S. J., REINECCIUS, G. A., Flavor encapsulation, Washington, DC: p. 158-176,1988.

JUNG,B.-O.; CHUNG, S.-J; LEE,S.B., **Preparation and Characterization of Eugenol-Grafted Chitosan Hydrogels an their antioxidant activities**, Journal of Applied Polymer Science, v.99, p. 3500-3506, 2006.

KAWAMURA, Y.; MITSUHASHI, M.; TANIBE, H. **Adsorption of metal ions on polyaminated highly porous chitosan chelating resin**. Ind. Eng. Chem. Res. v. 32, p. 386 – 391, 1993.

KING,A.H.,**Encapsulation of food ingredients: a review of avaible technology, focusing hidrocolloids**. In: RISH,S.J., REINECCIUS,G.A., Encapsulation and controlled release of food ingredients, Washington, p.8-25, DC: 1995.

KIRBY, C. S., **Microencapsulation and controlled delivery of foof ingredients**, Food Science and Technology Today p. 74-75, 1991.

KITTUR, F. S., THARANATHAN, R. N., **Chitin – The Undisputed Biomolecule of Great Potencial**, Critical Review in Food Science and Nutrition, 43 (1), 61-87,2003.

KRAJEWSKA, B., **Application of chitin and chitosan – based materials for enzyme immobilizations: a review**, Enzyme and Microbial Technology, v.35, 126-139, 2004.

KUMAR, M. N. V. R. **A review of chitin and chitosan applications**. Reactive & Functional Polymers. v. 46, p. 1 – 27, 2000.

LONGHINOTTI, E.; POZZA, F.; FURLAN, L.; SANCHES, M. N. M.; KLUG, M.; LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. **Adsorption of anionic dyes on the biopolymer chitin**. Journal Braz. Chem. Soc. v. 9, p. 435 – 440, 1998.

MATHUR,N.K., NARANG,K.C., **Versatile polyssacharides from marine animals**, Journal of chemical education, v.67, n.11, p.938, 1990.

MAZZAFERA, P. **Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol**, Revista Brasil. Bot., V.26, n.2, p.231-238, 2003.

MUZZARELLI, R.A.A., **Natural chelating polymers**, Pergamon Press, Oxford, 1973.

MUZZARELLI,R.A.A., **Chitin**, Pergamon: Oxford, p.207, 1997.

POTHAKAMURY, U.R.,BARBOSA – CANOVÁS, G. V., **Fundamental aspects of controlled release in foods**, Trends in food Sci & technology, 6, 1995.

Química orgânica, departamento de química – UFSC, disponível na internet, <<http://www.qmc.ufsc.br/organica/exp10/eugenol.html>>, acesso em 18 de outubro 2006.

RAYMOND, L.; FREDERICK, G. M.; MARCHEPAULT, R. H.; **Degree of deacetylation of chitosan using conductimetric titration and solid stat NMR**, Carbohydrate Research, v. 246, p. 331-336, 1993.

REINECCIUS, G. A., **Flavor encapsulation**, Washington, DC: p. 158-176, 1988.

REINECCIUS, G.A. **Carbohydrates for flavor encapsulation**. Food Technology, p. 144-146, March, 1991.

RISH, S. J., **Encapsulation: overview of uses and techniques**, In: RISH, S. J.,

REINECCIUS, G. A, Encapsulation and controlled release of food ingredients, Washington, DC: p. 8-25,1995.

ROBERTS,G.A.F., **Chitin Chemistry**,1ed, London: The Macmillan Press Ltd, 1992.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. **A scanning electron microscopy study of microencapsulation**. Journal of Food Science. 50, 139-144, 1995.

SANTOS, A. B., FERREIRA, V. P., GROSSO, C. R. F., **Microcápsulas – uma alternativa viável (Microencapsulação de produtos sensíveis à oxidação: óleo-resina de páprica)**, Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. N°16, ano 3, p. 26-30, 2000.

SANTOS, J.E., et al, **Caracterização de Quitosana Comerciais de Diferentes Origens**, Polímeros; Ciência e Tecnologia, v.13, n.4, p.242 – 249, 2003.

SHAHIDI, F. & HAN, X.Q. **Encapsulation of Food Ingredients**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, p.501-547, 1993.

SHAHIDI,F & HAN,X., **Critical Review in food Science and Nutrition**, 33,6,501-547, 1995

SILVA, F. O.; ALBUQUERQUE, J. C. **Comparison between steam, microwave distillation and supercritical CO₂ extraction of essential oil of two species of Ocimum**. In: *IV Encontro Brasileiro de Fluidos Supercríticos*, 2001, p. 439-442.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro, RJ; 6° ed.; 2000.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., **Fundamental of Analytical Chemistry**, 6ª ed., Forth Worth: Saunders College, p.829,1991.

SPARKS, R. E., **Microencapsulation in encyclopedia of chemical technology**. 3.ed, New York: Kik Othmer, v.15, 1990.

SPARKS, R. E., **Microencapsulation**, In: Kirk – Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, 3 ed. Jon Wiley and Sons, New York, v.15, p:470, 1981.

TAN, C. S.; KHOR, E.; TAN, T. K.; WONG, S. M., **The degree of deacetylation of chitosan: advocating the first derivate UV-spectrophotometry method of determination**, Talanta, v. 45, p. 713-719, 1998.

WENDHAUSEN, P., **TG - Análise Termogravimétrica**, Laboratório de análises Termofísicos, disponível na internet <http://www.materiais.ufsc.br/~atermicas/tg.htm>, acesso em 15 de outubro 2006.

WHORTON, C. **Factors influencing volatile release from encapsulation matrices**. In: Encapsulation and Controlled Release of food Ingredients. Risch, S. J. And Reineccius, G. A., Eds., American Chemical Society, Washington, DC, p.134 – 142, 1995.

WILDWOOD, C. *O livro dos perfumes*. São Paulo: Nova Cultural, 1994.

ZAMBONI, S. Óleos Essenciais. **Revista Brasileira de Química**. XCV, v. 11, n. 575, p.106-110, 1983.